

На правах рукописи



НЕСМЕЛОВ АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ

**ИНИЦИАЦИЯ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ  
ПРОЦЕССОВ САМООЧИЩЕНИЯ КАК СПОСОБ  
ПОДГОТОВКИ УГЛЕВОДОРОДНЫХ ШЛАМОВ К  
БИОРЕМЕДИАЦИИ**

03.02.03 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Казань – 2012

Работа выполнена на кафедре микробиологии биолого-почвенного факультета  
ФГАОУВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

Научный руководитель: Доктор биологических наук, в.н.с.  
**Наумова Римма Павловна**

Официальные оппоненты: **Габдрахманова Лейла Асхатовна**, доктор  
биологических наук, с.н.с., ФГБОУ ВПО «Казанский  
государственный энергетический университет», нач.  
учебного управления.

**Никитина Елена Владимировна**, кандидат  
биологических наук, доцент кафедры технологии  
пищевых производств, ФГБОУ ВПО «Казанский  
национальный исследовательский технологический  
университет», доцент.

Ведущая организация: ГНУ «Татарский научно-исследовательский институт  
сельского хозяйства РАСХН», г. Казань.

Защита диссертации состоится «29» марта 2012 г. в 13-00 часов на заседании  
диссертационного совета Д.212.081.08 при ФГАОУВПО «Казанский (Приволжский)  
федеральный университет» по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18,  
главное здание, ауд. 211.  
Факс 8(843)238-71-21, 233-78-72. *E-mail*: nesmelov@gmail.com

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского  
Казанского (Приволжского) федерального университета.

Автореферат разослан «29» февраля 2012 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук



З. И. Абрамова

**Актуальность.** Образование шламов, содержащих углеводороды, представляет собой одну из наиболее сложных экологических проблем нефтегазовой промышленности. Данные отходы представляют собой осадки различного происхождения, загрязнённые нефтью, нефтепродуктами и углеводородами иного происхождения. На предприятиях органического синтеза и нефтехимии основная масса шламов образуется при первичной очистке сточных вод, содержащих углеводороды. Шламы подобного происхождения представляют собой смесь компонентов, отделившихся при отстаивании от основного объёма стоков; для них характерен высокий уровень углеводородного загрязнения и токсичности, что обуславливает их опасность для окружающей среды и здоровья человека. Объёмы образования данных отходов на крупном предприятии могут достигать более 10 тыс м<sup>3</sup> в год. Специфический комплекс свойств шламов – прежде всего, высокое содержание воды, сложность состава углеводородной фракции, устойчивое состояние в виде вязкой водо-нефтяной эмульсии, обуславливают сложность и высокую стоимость переработки отходов данного типа в большинстве случаев. По этой причине значительная масса шламов размещается на полигонах без переработки.

Применение биотехнологий для переработки шламов, содержащих углеводороды, является объектом постоянного внимания исследователей по всему миру, что подтверждается постоянной публикацией работ по данному направлению. Этот интерес обусловлен достоинствами биотехнологий, которые зачастую характеризуются наилучшим сочетанием показателей эффективности, стоимости и экологической безопасности, по сравнению с термическими (сжигание), физико-химическими (экстракция, отверждение, стабилизация) и иными технологиями переработки. Благодаря своим достоинствам биотехнологии практически повсеместно используются для переработки и обезвреживания различных загрязнённых объектов. Однако, они ограниченно применимы для обработки шламов, содержащих углеводороды. Это обусловлено высокой токсичностью отходов данного типа и длительностью деградации углеводородного загрязнения, составляющего от 10 до 60% по массе. В абсолютном большинстве случаев исследования по биологической переработке шламов предусматривают многократное разбавление шлама почвой, торфом, опилками и иными агентами. Данный подход увеличивает стоимость обезвреживания и конечный объём продукта переработки, содержащего остаточное загрязнение.

В связи с вышесказанным, представляет интерес вовлечение процессов самоочищения шламов в процесс их подготовки к биологическому обезвреживанию. Данные процессы протекают при хранении шламов и обусловлены воздействием спектра абиотических (прежде всего, климатических) и биотических факторов. Однако эффективность их в случае шламов, находящихся в хранилищах, оказывается невысокой по ряду причин: хранение шламов в сравнительно глубоких накопителях (глубиной от 1 до 5 м и более), недостаток соединений азота и неблагоприятный водный режим, характеризующийся чередованием периодов переувлажнения и пересыхания шламовых масс.

В связи с вышеизложенным **целью** настоящей работы явилась разработка способа подготовки углеводородсодержащих шламов к биологическому обезвреживанию, основанного на направленном ускорении физико-химических и биологических процессов их самоочищения.

В связи с поставленной целью решались следующие **задачи**:

1. Установить закономерности изменения физической структуры и химического состава шламов под воздействием замораживания и оттаивания и выявить основные компоненты в минералогическом составе твёрдой фазы шлама.
2. Определить токсические и генотоксические свойства водной фазы шлама до и после воздействия замораживания и оттаивания.
3. Охарактеризовать динамику изменений качественного и количественного состава и активности микрофлоры шламов под воздействием замораживания и оттаивания.
4. Провести полевой эксперимент по подготовке шлама ОАО «Казаньоргсинтез» к биологическому обезвреживанию методом замораживания и оттаивания в масштабе промышленных испытаний.
5. Подобрать условия для ускорения биологического обезвреживания подготовленного шлама за счёт оптимизации доз азотных (нитрат аммония) и фосфорных (суперфосфат) удобрений, скрининга растений-фитомелиорантов и внесения наполнителей.

**Научная новизна.** Впервые охарактеризованы эффекты замораживания и оттаивания по отношению к обезвреживанию шламов двух крупнейших в нефтегазовой отрасли предприятий Татарстана – ОАО «Казаньоргсинтез» и ОАО «Нижнекамскнефтехим». Впервые установлено, что воздействие замораживания и оттаивания способно ускорять обезвреживание углеводородсодержащего шлама в условиях высушивания. Впервые охарактеризован эффект замораживания и оттаивания по отношению к состоянию микрофлоры углеводородсодержащих шламов и к условиям обитания микрофлоры с точки зрения токсических и генотоксических свойств водной фазы данных отходов. Впервые охарактеризован состав их минеральных фаз. Впервые осуществлена подготовка углеводородного шлама к биоремедиации за счёт инициации физико-химических и микробиологических процессов самоочищения, достигнуто снижение уровня загрязнения и токсичности до уровня, совместимого с ростом растений. Впервые предложены методы ускорения биологического обезвреживания шлама ОАО «Казаньоргсинтез».

**Практическая значимость.** Результаты работы способствуют решению проблемы переработки шламов, содержащих углеводороды. Полученные результаты демонстрируют возможность подготовки отходов данного типа к биологическому обезвреживанию за счёт минимальной обработки, активизирующей процессы их самоочищения. Таковая подготовка характеризуется максимальной технологической простотой и высокими экономическими показателями, но позволяет снизить уровень загрязнения и токсичности отходов до уровня, совместимого с ростом растений и тем самым позволяет активизировать обезвреживание углеводородсодержащих шламов за счёт использования метода фиторемедиации. Масштабирование эксперимента по подготовке шлама в полевых условиях опытно-промышленных испытаний продемонстрировало, что таковая подготовка может быть успешно применена в реальных условиях предприятий. Проведённые в работе скрининг растений-фитомелиорантов и оптимизация доз азотных и фосфорных удобрений позволили разработать схему дальнейшего биологического обезвреживания отхода, что открывает перспективы создания новой технологии переработки шламов, содержащих углеводороды. Данная технология

характеризуется экстенсивностью и низкой стоимостью, позволяя снизить загрязнение и токсичность шламов до уровня, обеспечивающего снижение опасности отхода на один класс и получение экономического эффекта. Кроме того, частичное снижение уровня загрязнения шлама предполагает деструкцию и трансформацию в первую очередь низкомолекулярных компонентов, характеризующихся максимальной доступностью для организмов, что повышает безопасность шлама и способствует улучшению состояния окружающей среды и условий для работников предприятий.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Воздействие замораживания и оттаивания дестабилизирует физическую структуру углеводородного шлама ОАО «Казаньоргсинтез», ускоряет его обезвоживание в условиях высушивания до 26% в течение 10 сут, и не вызывает изменений токсических и генотоксических свойств водной фазы данного отхода, но вызывает снижение численности и активности микрофлоры.

2. С применением рентген-дифрактометрического анализа установлено, что в составе механических примесей шлама преобладают минералы, способные оказать значительное влияние на процессы трансформации органических компонентов шлама за счёт структурирующего действия ионов кальция.

3. В полевых условиях продемонстрировано, что воздействие комплекса процессов самоочищения шлама ОАО «Казаньоргсинтез», ускоренных в контролируемых условиях, позволяет достичь снижения уровня загрязнения и токсичности шлама до уровня, совместимого с ростом растений-фитомелиорантов и, тем самым, подготовить его к интенсивному биологическому обезвреживанию методом фиторемедиации.

4. Демонстрирована возможность ускорения биологического обезвреживания шлама за счёт вовлечения микробно-растительных взаимодействий в процесс обезвреживания шлама при высеве овса *Avena sativa* L., внесении удобрений и агротехнической обработки.

#### **Связь работы с научными программами и собственный вклад автора в исследования.**

Работа выполнена в соответствии с тематическим планом КФУ, регистрационный номер 01200955076, «Механизмы регуляции функциональной активности клеток» при поддержке АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы» (2.1.1/920), государственного контракта №16.515.11.5043. Рентген-дифрактометрический анализ минеральных фаз шламов проведён на базе ФГУП ЦНИИ Геологии нерудных полезных ископаемых, г. Казань. Полевые эксперименты проводили на базе цеха очистных сооружений ОАО «Казаньоргсинтез». Научные положения диссертации и выводы базируются на результатах собственных исследований автора.

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены и обсуждены на Материалы диссертации доложены и обсуждены на Российской школе-конференции молодых ученых «Экотоксикология: современные биоаналитические системы, методы и технологии» (Пушино-Тула, 2006), Международной конференции в рамках выставки «Waste Tech 2007» (Москва, 2007), III научной конференции "Промышленная экология и безопасность" в рамках VI Международного Форума "Нефть, газ, экология" (Казань, 2008), научной школе-конференции XIII симпозиума европейского симпозиума студентов-биологов «SymBioSE 2009» «Biology: Expansion of Borders» (Kazan, 2009), XIV Международной конференции «Microbial

enzymes in biotechnology and medicine» (Казань, 2009), IV Межрегиональной конференции «Промышленная экология и безопасность» (Казань, 2009), XIV Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых (Пушино, 2010), VI Международной научной школе «Наука и инновации – 2011» (Йошкар-Ола, 2011).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 2 статьи в центральных отечественных рецензируемых журналах: Ученые записки Казанского университета, Секция Естественные науки; Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. По материалам диссертации получен патент.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, раздела экспериментальных исследований, обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Работа изложена на 121 странице машинописного текста, включает 7 таблиц, 18 рисунков. Библиография содержит 108 наименований, в том числе 89 – зарубежных авторов.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

### **1.1. Объекты исследования, отбор и подготовка проб**

Основным объектом исследования являлся твёрдый промышленный отход (шлам) предприятия ОАО «Казаньоргсинтез» (Россия, Республика Татарстан, г. Казань). Кроме того, в ряде экспериментов был использован шлам ОАО «Нижнекамскнефтехим» (Россия, Республика Татарстан, г. Нижнекамск). Данные отходы образуются при первичной очистке сточных вод и представляют собой смесь компонентов, отделившихся от сточных вод при их отстаивании. В большинстве экспериментов и анализов использовали шламы в исходном или обработанном состоянии без дополнительной пробоподготовки. Для характеристики химического состава шлам высушивали на воздухе до постоянного веса, устраняли посторонние включения и измельчали в агатовой ступке.

### **1.2. Лабораторные эксперименты**

В лабораторных экспериментах замораживание и оттаивание образцов шламов проводили при следующих условиях: замораживание при минус 14°C в течение 10-12 часов, оттаивание при комнатной температуре 23-25°C в течение 6 часов.

*1.2.1 Оценка воздействия замораживания и оттаивания на обезвоживание шламов при центрифугировании.* Образцы шламов в исходном состоянии и после замораживания и оттаивания (которое проводили непосредственно в герметично закрытых центрифужных стаканах) центрифугировали при 3500g, периодически сливали отделившуюся водную фазу и определяли массу оставшейся части шлама. Повторность – трёхкратная.

*1.2.2 Оценка влияния замораживания и оттаивания на обезвоживание шламов при высушивании.* Образцы шламов в исходном состоянии и после замораживания, оттаивания и дополнительного усреднения помещали в донные части стеклянных чашек Петри (предварительно подобранных, равных размеров), полностью заполняя их ровным слоем шлама толщиной 1 см. Во втором варианте теми же образцами заполняли пластиковые контейнеры с внутренним диаметром 6 см и высотой 20 см без дна; донную часть контейнеров предварительно закрывали фильтровальной бумагой и двумя слоями марли для обеспечения оттока воды. В

обоих вариантах отслеживали потерю массы шлама при его высушивании при комнатной температуре (23-25°C).

*1.2.3 Рентген-дифрактометрический анализ минералогического состава шламов.* Использовали тонкоизмельченные образцы шламов после предварительной обработки биологическим методом фиторемедиации. Совокупность базальных рефлексов в интервале межплоскостных расстояний 65-3 Å регистрировали на рентгеновском дифрактометре D8 ADVANCE (Bruker, USA).

*1.2.4 Характеристика воздействия замораживания и оттаивания на микрофлору шлама.* Численность микроорганизмов различных физиолого-биохимических групп в шламе ОАО «Казаньоргсинтез» оценивали стандартным методом посева разведений объекта на спектр твёрдых сред: мясо-пептонный агар (МПА) для выделения аэробных гетеротрофных микроорганизмов, среда Эшби для выделения азотфиксирующих и олигонитрофильных микроорганизмов, среда Эндо для выделения бактерий группы кишечной палочки (БГКП), агаризованная среда с добавкой гексадекана для выделения деструкторов данного углеводорода.

Численность жизнеспособных некультивируемых микроорганизмов определяли с использованием модифицированного метода Когуре, внося в разведения шлама дрожжевой экстракт (250 мкг/мл; здесь и далее указана конечная концентрация) и антибиотики: налидиксовую кислоту (20 мкг/мл), пипемидиновую кислоту (10 мкг/мл), цефалексин (10 мкг/мл), ципрофлаксин (0.5 мкг/мл). После инкубации микроскопировали препараты шлама, подсчитывали общее количество клеток и количество клеток увеличенного размера и неправильной формы в полях зрения микроскопа.

Дыхательную активность микрофлоры шлама ОАО "Казаньоргсинтез" определяли, оценивая с помощью газовой хроматографии концентрацию CO<sub>2</sub> в над герметично закрытыми в течение одного часа пробами шлама (через 8 часов экспозиции при комнатной температуре, через два часа после подъёма их температуры до комнатной (23°C)).

*1.2.5 Оценка токсических и генотоксических свойств водной фазы шлама и ДМСО-экстракта шлама.* Водную фазу шлама получали центрифугированием проб шлама, оценивали в соответствии со стандартными методиками [ПНДФ Т 14.1.234 3-99; ПНДФ Т 01.19.229/2000]. Генотоксичность (мутагенное действие) определяли в стандартном тесте Эймса по отношению к штамму *Salmonella typhimurium* TA100 для водной фазы шламов и экстрактов, приготовленных на основе диметилсульфоксида (ДМСО) в пропорции 2:1 (по массе). Оценивали содержание гистидина по методу Ильинской с соавторами [Ильинская с соавт., 2001].

### **1.3 Полевые эксперименты.**

*1.3.1 Подготовка шлама ОАО «Казаньоргсинтез» к биологическому обезвреживанию в условиях полевого эксперимента.* В начале холодного сезона (9 ноября) отход с помощью погрузчика извлекли из действующего накопителя 41 Г, и распределили слоем толщиной около 0.3 м в свободном шламонакопителе, оборудованном дренажом, обрабатывали в соответствии с таблицей 1.

*1.3.2 Оценка дыхательной активности микрофлоры обработанного шлама при варьировании форм и доз удобрений и источника полива.* Опыт проводили со шламом, влажность которого в ходе предварительной обработки снизили до 20%. Вносили увлажняющую жидкость из различных источников и различные дозы удобрений (сульфат аммония, аммиачная селитра, аммофоска, мочевины, аммиачная селитра + суперфосфат), определяли дыхательную активность микрофлоры

стандартным газохроматографическим методом.

Таблица 1.

Схема полевого эксперимента по подготовке шлама ОАО "Казаньоргсинтез" к биологическому обезвреживанию

Дата	Последовательность технологических этапов обработки
9 ноября	Выемка шлама (5 м <sup>3</sup> ) из накопителя 41Г и перемещение в свободный накопитель 42Г, распределение слоем 25-30 см.
8 мая	Вспахивание мотокультиватором, анализ оптимальной дозировки азота по респираторной активности микрофлоры
11 мая	Внесение нитрата аммония (2 г/кг), повторное вспахивание, полив.
22 мая	Анализ оптимальной дозировки азота по респираторной активности микрофлоры
25 мая	Внесение нитрата аммония (3 г/кг), полив.

**1.3.3 Скрининг растений-фитомелиорантов.** Шлам закладывали по 20-25 кг в дренируемые контейнеры (34×64×20 см). Высевали семена тестируемых растений (20шт/дм<sup>2</sup>). Определяли показатели развития растений в течение 2-х недель согласно ISO 11269 (1993). Контроль – незагрязнённая почва (дерновый подзол).

**1.3.4 Полевой эксперимент по оптимизации параметров фиторемедиации.** Для эксперимента использовали специально подготовленные делянки (рис. 1), размещённые на бетонированном основании шламонакопителя, укрытом дополнительным дренажным слоем. В подготовленный в полевом эксперименте шлам вносили наполнители (фитомассу и/или опилки) и удобрения (3.5 г NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> + 1 г суперфосфата на 1 кг шлама) в различных вариантах (табл. 2). Оценивали развитие овса *Avena sativa* L. по накоплению общей биомассы.

Таблица 2.

Схема вариантов деляночного опыта по оптимизации фиторемедиации в полевых условиях

№ делянки	Наполнители, доза (% по объёму)	Удобрения, доза внесения, гN(P)/кг сух шлама
1	нет	1гN/кг + 0.6 г P/кг
2	опилки (10%)	1 гN/кг + 0.6 г P/кг
3	опилки (20%)	1 гN/кг + 0.6 г P/кг
4	фитомасса (10%)	1 гN/кг + 0.6 г P/кг
5	фитомасса (20%)	1 гN/кг + 0.6 г P/кг
6	опилки (10%) + фитомасса (10%)	1 гN/кг + 0.6 г P/кг
7	опилки (10%) + фитомасса (10%)	0.5 гN/кг + 0.3 г P/кг
8	опилки (10%) + фитомасса (10%)	нет
9 (контроль)	нет	нет

## 1.4 Методы анализа

**1.4.1 Биологические методы анализа.** Измерение дыхательной активности микробного сообщества шлама проводили посредством газохроматографического определения накопления CO<sub>2</sub> над образцом шлама в закрытом объёме, в стандартных аэробных условиях [Schinner, 1995]. Токсический потенциал шлама по отношению к растениям оценивали согласно стандартной методике определения токсичности почв ISO 11269 (1993). В качестве контроля использовали





Рис. 1. Каркас для проведения опыта

незагрязнённую почву (выщелоченный чернозём). Для определения действия шлама на рост корней и накопление общей фитомассы также использовали адаптированный международный стандартный метод, применяемый для оценки фитотоксичности почв – ISO 11269.

*1.4.2 Методы анализа физической структуры.* Использовали стандартные методики определения физической структуры почв [Klute, 1986].

*1.4.3 Методы анализа химического состава.* Содержание бихромат-окисляемых компонентов в шламе определяли по Тюрину [Аринушкина, 70]. pH шлама определяли pH-метром Мультитест ИПЛ-113 в водном экстракте при соотношении шлам/вода 1/5. Содержание летучих компонентов определяли по стандартному методу, основанному на их улавливании (путём конденсации в холодильнике) после испарения из отхода при его кипячении с водой [Лурье, 1984]. Количество хлороформ-экстрагируемых веществ определяли путём исчерпывающей экстракции хлороформом в аппарате Сокслета. Для определения содержания фракций мальтенов (гексан-растворимых компонентов) и асфальтенов (гексан-нерастворимых компонентов) хлороформный экстракт переэкстрагировали гексаном в аппарате Сокслета.

### **1.5 Статистическая обработка данных.**

В работе использовали стандартные пакеты программ Microsoft Office 2003 и 2007, OpenOffice (3.2.1, 3.3.2), LibreOffice (3.4.3). При описании и сравнении количественных признаков, характеризующихся нормальным распределением, использовали стандартный набор параметров: среднее арифметическое, стандартное отклонение, квадратичное отклонение. Нормальность распределения оценивали приближённо, по значениям эксцесса полученных массивов данных. Во всех вариантах  $p < 0.05$  принимали за достоверный уровень значимости. Представление результатов в графиках: среднее арифметическое и стандартное отклонение.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **2.1 Химический состав и токсические свойства шламов.**

Отходы характеризуются высоким содержанием углеводов (компонентов, экстрагируемых хлороформом), на уровне  $99.2 \pm 16.5$  г/кг сухого веса для шлама ОАО "Казаньоргсинтез" и  $280.5 \pm 8.7$  для шлама ОАО "Нижнекамскнефтехим" (табл. 3). Исходная фитотоксичность шламов составляла 100%: контакт с массами шлама полностью подавлял прорастание семян, рост и развитие проростков. Для шлама ОАО "Казаньоргсинтез" EC50 (при разбавлении отхода незагрязнённой почвой) находилась на уровне 10-15% в тесте на прорастание семян овса. Токсичность водного экстракта необработанного отхода в тесте на прорастание семян овса составила 3-5%.

Таблица 3.

Характеристики шлама ОАО «Казаньоргсинтез» и шлама ОАО «Нижнекамскнефтехим»

Характеристика	Значение	
	Шлам ОАО «Казаньоргсинтез»	Шлам ОАО «Нижнекамскнефтехим»
Содержание органического углерода (бихромат-окисляемых компонентов), гС/кг	133.5±10.5	280.5±8.7
Содержание углеводов (компонентов, экстрагируемых хлороформом), г/кг в том числе асфальтенов, г/кг	99.2±16.5 48.5±0.2	254.6±10.4 7.5±2.1
Содержание летучих компонентов, г/кг	87.5±7.1	53.8±9.2
Общее содержание азота, гN/кг	4.2±2.5	7.1±0.3
рН водной вытяжки	8.4±0.2	8±0.2
Влажность, %	71±2	74±3

**2.1.1 Влияние замораживания и оттаивания на обезвоживание шламов****2.1.2 Влияние замораживания и оттаивания на обезвоживание шламов в условиях центрифугирования**

После воздействия замораживания и оттаивания ускоряется отделение водной фазы от массы шламов ОАО «Казаньоргсинтез» и ОАО «Нижнекамскнефтехим» в условиях центрифугирования (рис. 2).

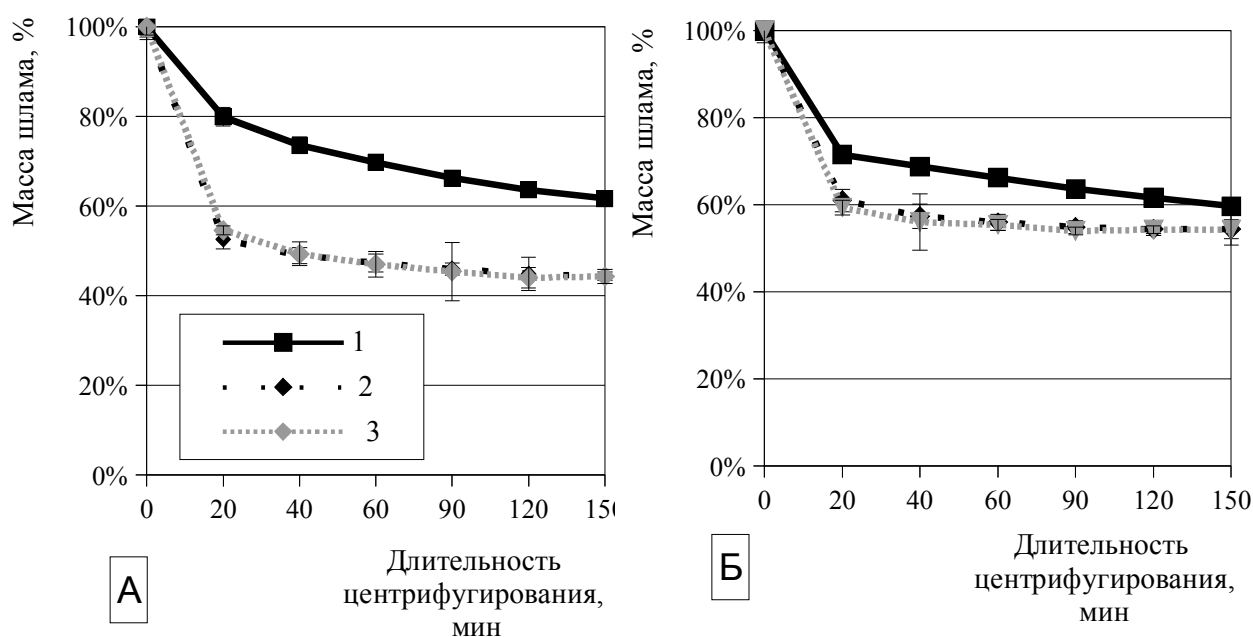


Рис. 2. Отделение водной фазы от масс шлама ОАО «Нижнекамскнефтехим» (А) и ОАО «Казаньоргсинтез» (Б) при центрифугировании (3500g). 1 – исходный шлам, 2 – шлам после однократного замораживания и оттаивания, 3 – после пятикратного замораживания и оттаивания.

**2.1.3 Влияние замораживания и оттаивания на обезвоживание шламов в условиях высушивания**

После воздействия замораживания и оттаивания ускоряется обезвоживание шлама ОАО «Казаньоргсинтез» при высушивании на воздухе (рис. 3). Эффект по

отношению к шламу ОАО "Нижнекамскнефтехим" отсутствовал. Это указывает на то, что в дестабилизации структуры данных шламов под действием замораживания и оттаивания участвуют различные механизмы.

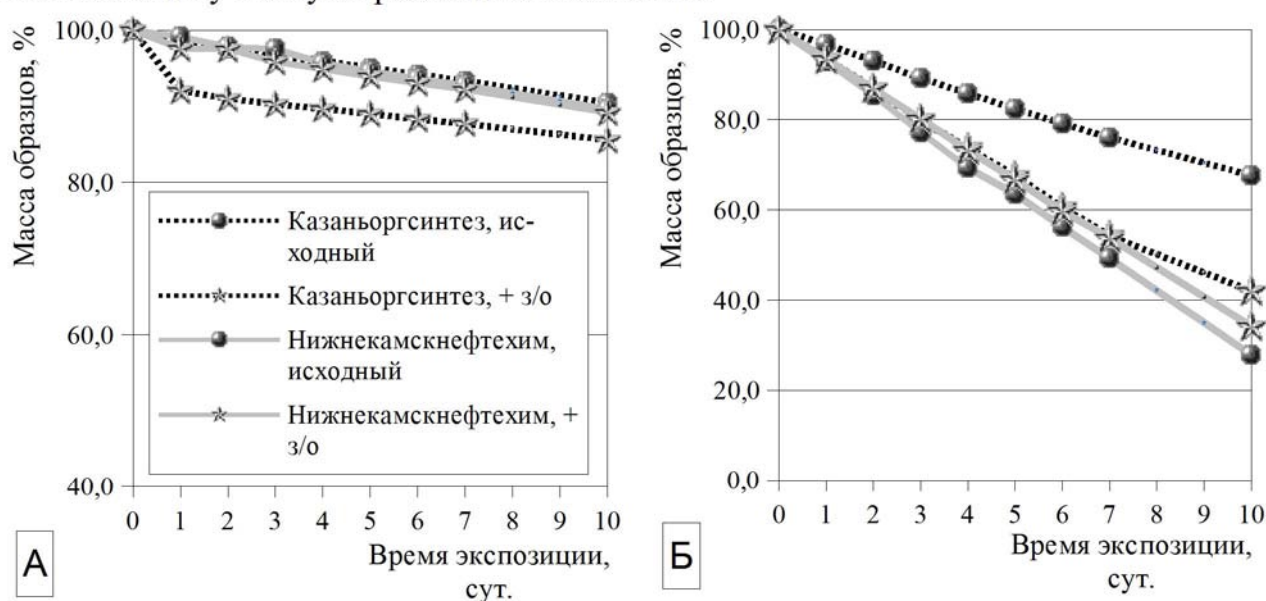


Рис. 2. Обезвоживание шлама ОАО "Казаньоргсинтез" в условиях высушивания. Шлам размещался слоем толщиной 20 см с дренажом (А) и слоем толщиной 1 см без дренажа (Б). 3/о — замораживание и оттаивание.

## 2.2 Минералогический состав шламов

Высокий уровень шумов от остаточных органических компонентов в образцах шламов обусловил невозможность количественной оценки полученных рентген-дифрактограмм<sup>1</sup> (рисунки 3, 4). В минеральной части шлама ОАО «Нижнекамскнефтехим» преобладает кальцит (рисунок 3), надежно идентифицируются кварц и полевые шпаты, рефлексы от глинистых минералов – в частности, хлорита и слюды. Таким образом, в составе шлама присутствуют, помимо кальцита, и обычные порообразующие силикаты. Минералогический состав шлама ОАО «Казаньоргсинтез» несколько отличается (рисунок 4). Основными минералами являются также кварц (преобладает) и кальцит. Значительные индивидуальные сигналы других минералов отсутствуют, хотя шумы от органических соединений могут скрывать достаточно значительные сигналы иллита-сметита в левой части спектра.

## 2.3 Воздействие замораживания и оттаивания на микрофлору шлама ОАО «Казаньоргсинтез»

### 2.3.1 Воздействие замораживания и оттаивания шлама на численность культивируемых микроорганизмов

Результаты учёта численности микроорганизмов на плотных средах (рис. 6) свидетельствуют, что под воздействием замораживания и оттаивания шлама ОАО "Казаньоргсинтез" происходит достоверное снижение численности аэробных гетеротрофных (снижение  $\log_{10}$  с  $6.2 \pm 1.1$  до  $4.5 \pm 0.4$ ) микроорганизмов и бактерии группы кишечной палочки (снижение  $\log_{10}$  с  $3.8 \pm 0.7$  до  $2.2 \pm 0.6$ ), численность углеводородокисляющих и азотфиксирующих микроорганизмов достоверно не изменяется, оставаясь на высоком уровне ( $\log_{10}$  численности после замораживания и оттаивания  $4.3 \pm 0.6$  и  $3.3 \pm 1.3$ , соответственно).

<sup>1</sup> Рентген-дифрактограммы получены на базе ФГУП ЦНИИ Геологии нерудных полезных ископаемых, г. Казань, анализ выполнен Шинкарёвым А.А.



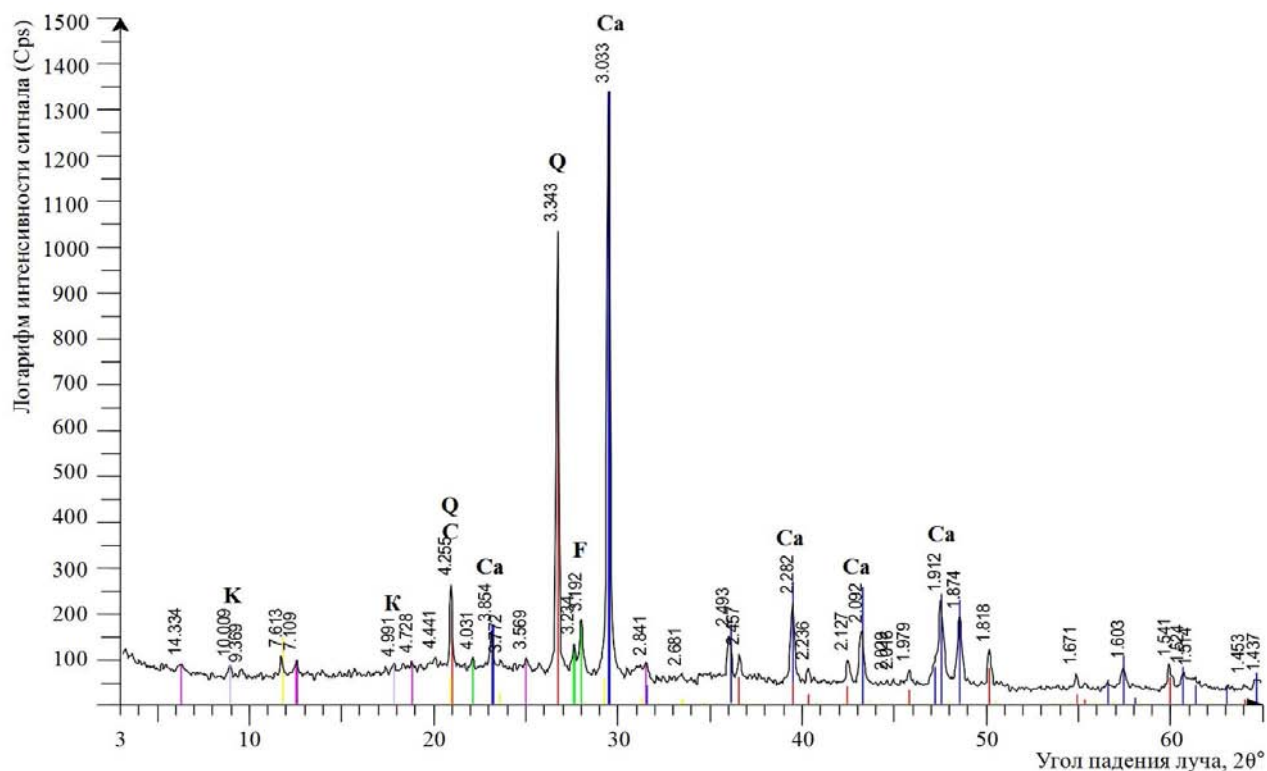


Рис. 3. Рентген-дифрактограмма порошкового препарата шлама ОАО "Нижнекамскнефтехим". Обозначения: Q – кварц, Ca – кальцит, F – полевые шпаты, K – слюда.

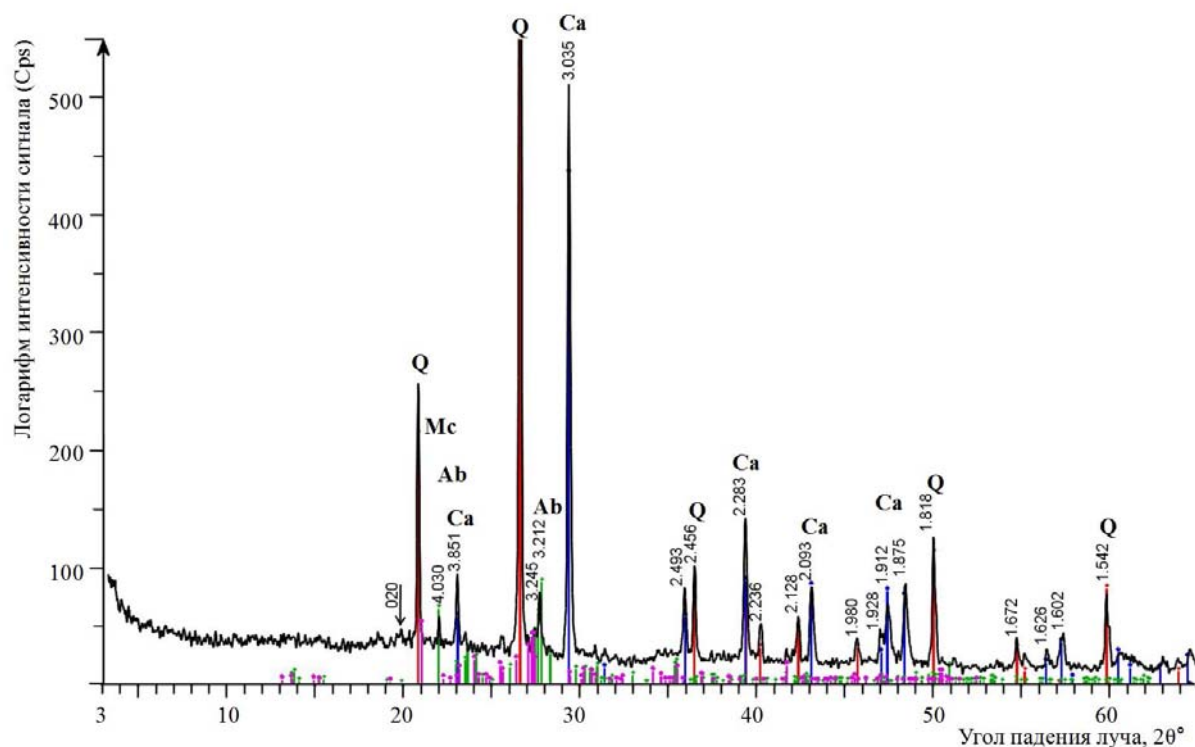


Рис. 4. Рентген-дифрактограмма порошкового препарата шлама ОАО "Казаньоргсинтез". Обозначения: Q – кварц, Ca – кальцит, Mc – микроклин, Ab – альбит.

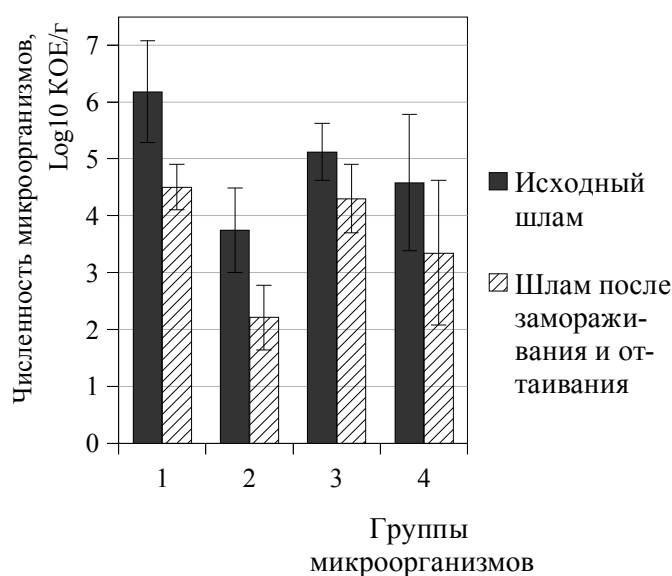


Рис. 5. Изменение численности культивируемых микроорганизмов различных физиолого-биохимических групп в шламе Казаньоргсинтез (КОЕ) под воздействием замораживания и оттаивания. Группы микроорганизмов и среды, использованные для их выделения: 1 – аэробные гетеротрофные микроорганизмы (среда МПА), 2 – бактерии группы кишечной палочки (среда Эндо), 3 – деструкторы гексадекана (солевая среда с гексадеканом), 4 – азотфиксаторы (среда Эшби).

### 2.3.2 Воздействие замораживания и оттаивания шлама на численность жизнеспособных микроорганизмов в тесте Когура

Зафиксировано снижение численности микроорганизмов, способных к росту при внесении в среду дрожжевого экстракта, под воздействием замораживания и оттаивания (рис. 7). Получены лишь сравнительные данные (до и после замораживания); приведение данных к абсолютным значениям не представляется возможным ввиду специфики минеральной части шлама, обуславливающей невозможность проведения учёта клеток в камерах Горяева.

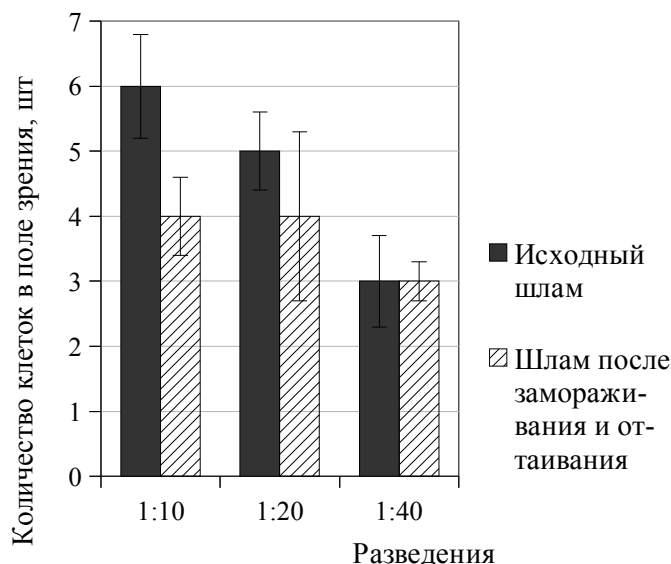


Рис. 6. Изменения численности жизнеспособных микроорганизмов в шламе ОАО "Казаньоргсинтез" по данным теста Когура под воздействием замораживания и оттаивания

### 2.3.3 Воздействие замораживания и оттаивания на дыхательную активность микрофлоры шлама

Воздействие замораживания и оттаивания вызывает достоверное снижение эмиссии углекислого газа образцами шлама, с  $26.0 \pm 0.9$  до  $18 \pm 1.4$  мг  $\text{CO}_2$  /кг шлама в час (рис. 8), что характеризует снижение дыхательной активности микрофлоры под воздействием замораживания и оттаивания.

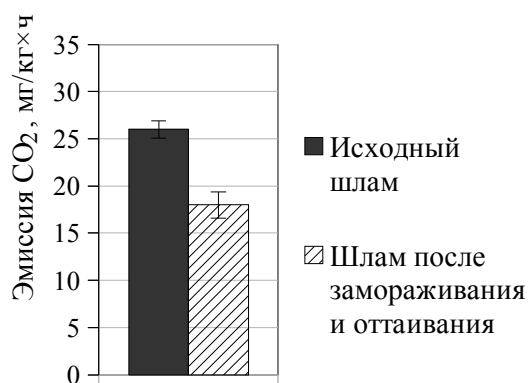


Рис. 7. Изменение дыхательной активности микрофлоры шлама ОАО "Казаньоргсинтез" под воздействием замораживания и оттаивания.

#### 2.4 Воздействие замораживания и оттаивания шлама на токсические и генотоксические свойства, состав водной фазы шлама

Изменения токсических свойств незначительны и затрагивают лишь слабое увеличение токсического эффекта водной фазы шлама ОАО "Казаньоргсинтез" по отношению к *Ceriodaphnia affinis* (рис. 8). Токсичность водной фазы обоих шламов по отношению к *Paramecium caudatum* не изменилась (рис. 8).

Изменений генотоксических свойств водной фазы шлама ОАО "Казаньоргсинтез" не зафиксировано, мутагенности (по превышению количества ревертантов над контролем более чем в 2 раза) не выявлено ни для исходного шлама, ни для шлама после замораживания и оттаивания (рис. 9 А).

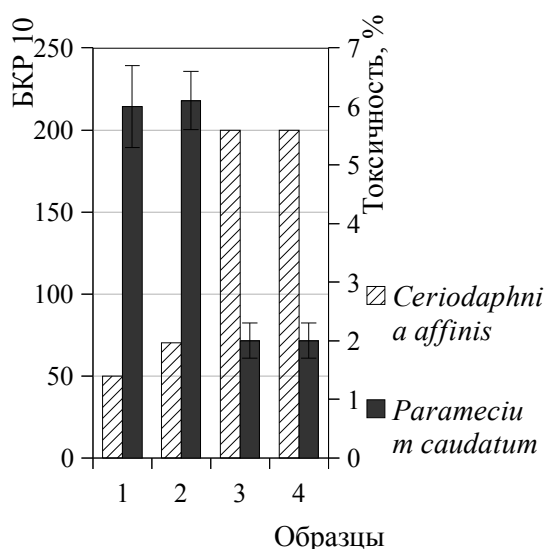


Рис. 8. Токсические свойства водной фазы шлама ОАО "Казаньоргсинтез" и ОАО "Нижнекамскнефтехим" до и после воздействия замораживания и оттаивания. 1 – исходный шлам ОАО "Казаньоргсинтез", 2 – он же после замораживания и оттаивания, 3 – исходный шлам ОАО "Нижнекамскнефтехим", 4 – он же после замораживания и оттаивания. Токсичность по отношению к *Ceriodaphnia affinis* выражена в БКР10, по отношению к *Paramecium caudatum* – в процентах токсичности. Токсический эффект характеризовался по обездвиживанию тест-объектов.

#### 2.5 Результаты полевого эксперимента по подготовке шлама ОАО "Казаньоргсинтез" к биоремедиации

В ходе подготовки шлама к биологическому обезвреживанию было зарегистрировано снижение уровня его загрязнения (общего содержания бихроматооксиляемых компонентов с  $124.5 \pm 9.6$  до  $108.1 \pm 13$ , общего содержания углеводов с  $96.1 \pm 15.0$  до  $83.7 \pm 7$  г/кг), снижение влажности с  $75 \pm 3$  до  $20 \pm 4\%$  (табл. 4). Зафиксированы изменения физической структуры отхода: снижение плотности до  $1.0 \pm 0.2$ , снижение водоудерживающей способности до  $44 \pm 0.9\%$ .

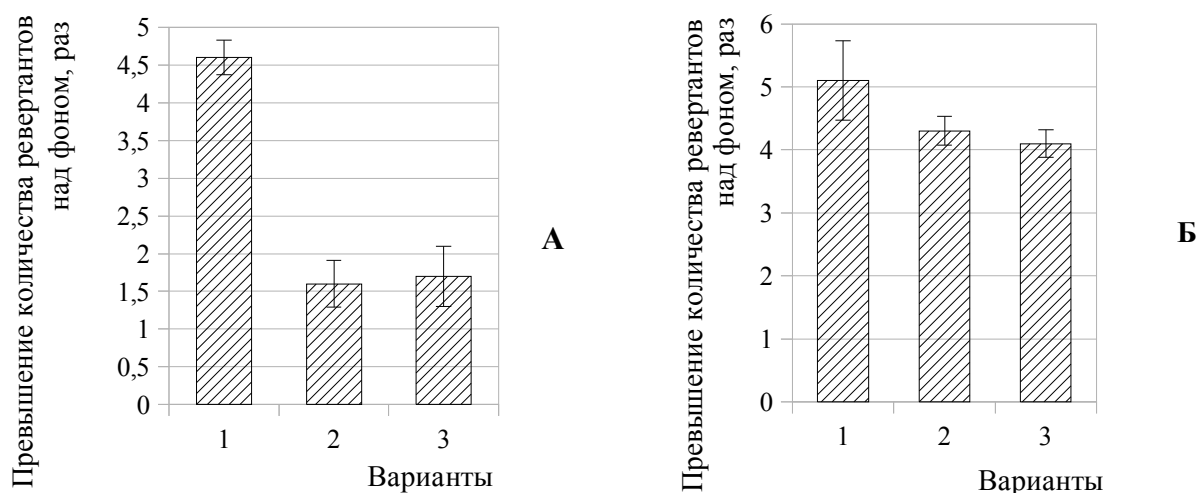


Рис. 9. Генотоксические свойства водной фазы шлака ОАО "Казаньоргсинтез" (А) и ДМСО-экстракта шлака ОАО "Казаньоргсинтез" (Б) до и после воздействия замораживания и оттаивания. 1 – положительный контроль (фурациллин), 2 – исходный шлак, 3 шлак после замораживания и оттаивания. Фоновая частота мутаций (в негативном контроле с внесением воды и ДМСО в соответствующих вариантах) принята за единицу.

Таблица 4.

Изменение химического состава и характеристик физической структуры шлака ОАО "Казаньоргсинтез" в ходе полевого эксперимента после оттаивания

Характеристика	Исходный шлак	Обработанный шлак
Содержание углеводов, г/кг	96.1±15.0	83.7±7
Содержание бихромат-окисляемых компонентов, гС/кг	124.5±9.6	108.1±13
Влажность, %	75±3	20±4%
Плотность, г/см <sup>3</sup>	1.6±0.1	1.0±0.2
Пористость, %	0	76±1
Водоудерживающая способность, %	67±1.3	44±0.9

Результаты мониторинга фитотоксичности в ходе обработки шлака указывают на его значительную детоксикацию за этот период (таблицы 5, 6). В исходном состоянии отход характеризовался 100% токсичностью по отношению к кукурузе, гороху и редису: контакт с массами шлака полностью подавлял прорастание семян, рост и развитие проростков кукурузы (*Zea mays L.*) и гороха (*Pisum sativum L.*). EC50 (при разбавлении отхода незагрязнённой почвой) находилась на уровне 29±9% для кукурузы и 22±3% для гороха (табл. 5). Токсичность обработанного шлака составила от 34±5 до 29±3 в отношении прорастания семян и от 47±9 до 37±4% – ингибирования роста корней (табл. 5, 6).

## 2.6 Результаты подбора условий для активизации биологического обезвреживания шлака

### 2.6.1 Скрининг растений-фитомелиорантов

Испытанные растения продемонстрировали различную устойчивость к токсическому действию обработанного шлака. Наилучшей всхожестью семян в обработанном шлаке обладали горох *Pisum sativum* (около 80%), ячмень *Hordeum*

Таблица 5.

Динамика фитотоксичности шлама в процессе обработки, тест на проращивание семян.

	Токсичность				
Длительность эксперимента	0 сут. *	7.сут	14 сут.	21.сут	28 сут.
Единица токсичности	EC50, %			Ингибирование, %	
Кукуруза	29±9	35±4	44±3	65±2	29±3
Горох	22±3	33±5	40±4	73±2	34±5

Таблица 6.

Динамика фитотоксичности шлама в процессе обработки, тест на накопление биомассы корней.

	Токсичность				
Длительность эксперимента	0 сут.	7.сут	14 сут.	21.сут	28 сут.
Единица токсичности	EC50, %			Ингибирование, %	
Кукуруза	18±4	27±7	36±5	65±3	47±9
Горох	23±6	33±1	42±7	72±4	37±4

*vulgare* (65%), овес *Avena sativa* (около 80%) и овсяница *Festuca pratensis* (65%) (рис. 10). В отношении накопления биомассы корней и побегов, большинство растений имели показатели на уровне 60-70%. По сумме значений всех трех параметров роста на обработанном шламе наиболее устойчивыми растениями являются ячмень, овес и овсяница (сем. Злаковые, *Poaceae*).

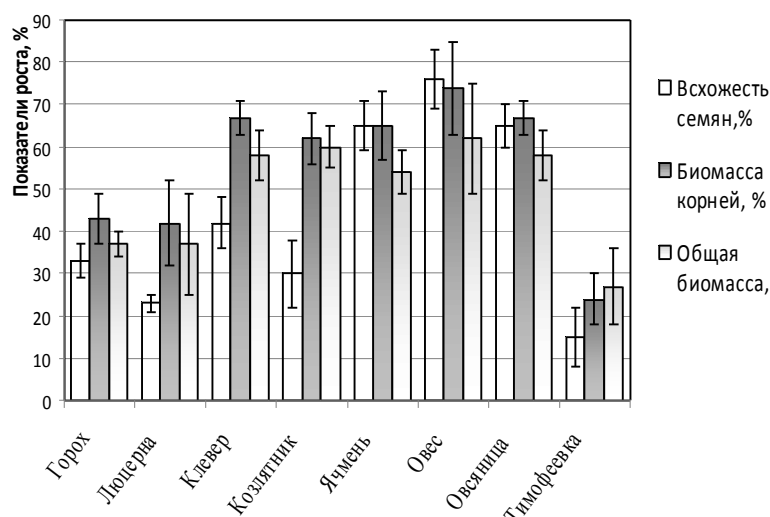


Рис. 10. Показатели роста растений на подготовленном шламе ОАО «Казаньоргсинтез».

### 2.6.2 Дыхательная активность микрофлоры шлама при варьировании форм и доз удобрений и источника орошения

Максимальный уровень дыхательной активности микроорганизмов достигнут при совместном внесении аммиачной селитры (3.5 г/кг) и суперфосфата (1 гР/кг), на фоне дополнительного увлажнения очищенным химическим стоком из вторичных отстойников (рис. 11).

\* С момента оттаивания масс шлама



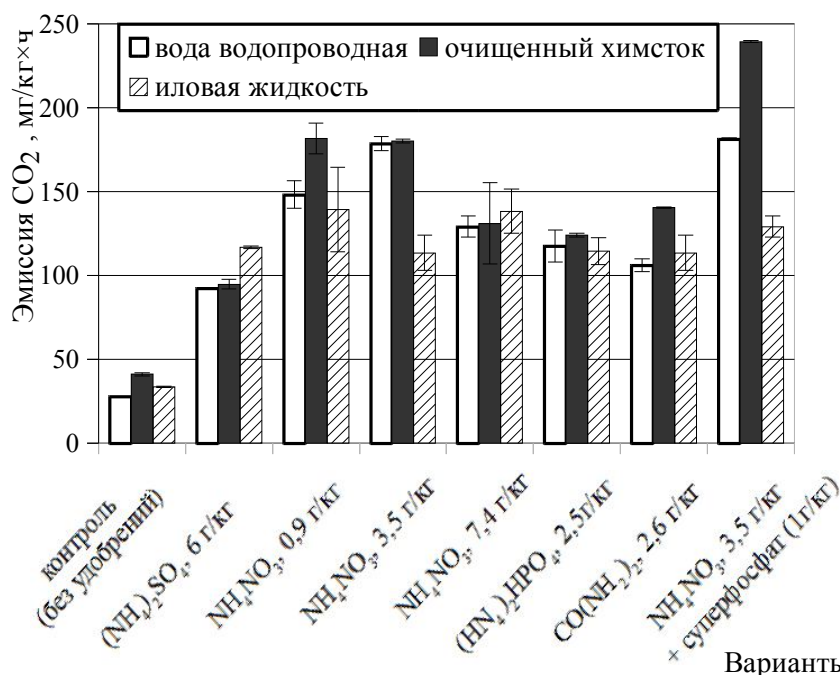


Рис. 11. Дыхательная активность микрофлоры обработанного шлама ОАО "Казаньоргсинтез"

### 2.6.3 Развитие растения-фитомелиоранта в обработанном шламе при внесении наполнителей и удобрений

Внесение удобрений в обработанный шлак стимулировало рост тестируемого растения-фитомелиоранта (овса *Avena sativa* L.) (рис. 12).

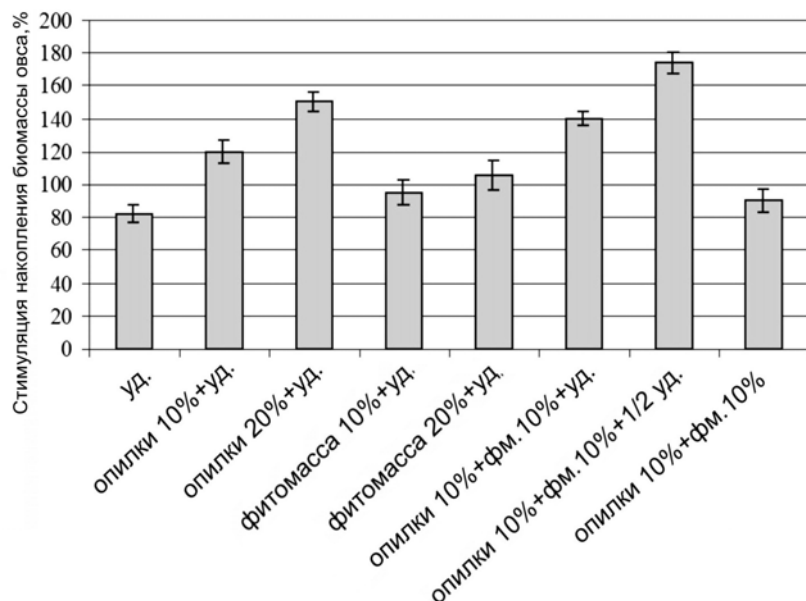


Рис. 12. Накопление биомассы овса *Avena sativa* L. при росте на обработанном шламе

При внесении 3,5 г NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> и 1 г суперфосфата на 1 кг шлама накопление биомассы растений по сравнению с контролем (шламом без удобрений и наполнителей) увеличилось на 80%. Добавление любого из исследуемых наполнителей на фоне данного количества удобрений улучшает состояние растений-фитомелиорантов. Наилучшие результаты в отношении стимуляции развития овса *Avena sativa* L. (стимуляция роста около 170 %) получены в варианте с внесением смеси наполнителей и половинной дозы удобрений.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### 3.1 Влияние замораживания и оттаивания на обезвоживание шламов

Установлено, что воздействие замораживания (при минус 14°C) и оттаивания вызывает дестабилизацию шламов ОАО «Казаньоргсинтез» и ОАО «Нижнекамскнефтехим», которая проявляется в ускорении разделения данных шламов на водную фазу и осадок при центрифугировании. Изменение свойств шлама ОАО «Казаньоргсинтез» под воздействием замораживания и оттаивания проявляется также в ускорении его обезвоживания в условиях высушивания. Отсутствие данного эффекта в отношении шлама ОАО «Нижнекамскнефтехим» указывает на то, что замораживание и оттаивание вызывает различные по своему механизму и/или масштабу изменения структуры данных шламов. По данным мировой литературы, в дестабилизации структуры водо-нефтяных эмульсий (и, в том числе, шламов) могут участвовать четыре различных механизма [Jean *et al.*, 2001; Chen, He, 2003; Lin *et al.*, 2008].

Замораживание и оттаивание широко исследовано как приём для повышения эффективности обезвоживания различных субстратов; единичные публикации посвящены замораживанию и оттаиванию нефтешламов, также с точки зрения характеристик их обезвоживания. Однако, в мировой литературе данные о замораживании и оттаивании шламов, содержащих углеводороды, и последующих процессах естественного самоочищения шламов с точки зрения их подготовки к биологическому обезвреживанию отсутствуют.

Выявленное ускорение высушивания шлама ОАО «Казаньоргсинтез» после воздействия замораживания и оттаивания представляет значительный интерес с точки зрения подготовки данного отхода к биологическому обезвреживанию. Исходное состояние нефтешламов и шламов предприятий органического синтеза в виде вязкой однородной массы, в которой отсутствует поровое пространство [Chen, He, 2003], ограничивает доступ воздуха в толщу этих отходов и, таким образом, эффективность его биологического обезвреживания. Замораживание и оттаивание, ускоряя обезвоживание шлама, ускоряет его переход в обезвоженное состояние твёрдого рыхлого субстрата. Данный переход кардинально улучшает газовый режим в толще шлама и открывает перспективы микробной деструкции компонентов шлама, снижения его загрязнения и токсичности. Это, в свою очередь, позволяет с минимальными затратами ускорить обезвреживание отхода.

Полученные результаты характеризуют замораживание и оттаивание как перспективный приём ускорения обезвоживания шлама ОАО «Казаньоргсинтез» в полевых условиях. Для осуществления замораживания и оттаивания шлама в условиях умеренного климата необходимо лишь смещение сроков размещения отхода на технологической площадке на осенний сезон.

### 3.2 Минералогический состав шламов

Высокое содержание остаточных органических компонентов в образцах шламов привело к тому, что количественная оценка полученных дифрактограмм оказалась невозможна – слишком высок уровень шумов. Однако, данные по минералогическому составу шламов на качественном уровне также представляют значительный интерес. В целом, в составе механических примесей шламов преобладают кальцит и распространённые породообразующие силикаты, представлены и вторичные глинистые минералы.

Преобладание кальцита в минеральной части шлама ОАО «Нижнекамскнефтехим» и его сравнительно высокое содержание в минеральной

части шлама ОАО «Казаньоргсинтез» играет важную роль в трансформации органических компонентов этих шламов. Общеизвестна важная роль Са-содержащих минералов в трансформации органического вещества почвы. Двухвалентные катионы кальция вносят наибольший вклад в образование мостиковых связей между отрицательно заряженными функциональными группами органических компонентов [Шинкарёв с соавт., 2007]. Подобного рода структурирование органических компонентов, с одной стороны, способствует организации структуры почвы на уровне микроагрегатов. С другой стороны, при этом может снизиться доступность органических компонентов для атаки микробными ферментами, как за счёт физической изоляции и ограничения доступа кислорода в объём микроагрегатов, так и за счёт снижения на несколько порядков скорости протекания ферментативных реакций при изменении геометрии субстратов (изгибе участков макромолекул при их сорбции на минеральных поверхностях, в том числе – с участием ионов кальция) [Шинкарёв с соавт., 2007].

### **3.3 Воздействие замораживания и оттаивания на микрофлору шлама**

Проведенное исследование позволяет сделать вывод, что замораживание и оттаивание оказывает негативный эффект на микрофлору отхода. Показано снижение численности культивируемых микроорганизмов двух физиолого-биохимических групп (аэробные гетеротрофные микроорганизмы, бактерии группы кишечной палочки), снижение численности жизнеспособных микроорганизмов по данным теста Когуре, снижение респираторной активности шлама. Негативный эффект замораживания по отношению микроорганизмы широко известен из данных литературы и основан на механическом повреждении компонентов клеток, прежде всего, клеточной стенки, растущими кристаллами льда [Parker *et al.*, 2000]. Полученные данные, что численность аэробных гетеротрофных культивируемых микроорганизмов в шламе ОАО «Казаньоргсинтез» снижается с  $6.2 \pm 1.1$  до  $4.5 \pm 0.4$ , а численность деструкторов гексадекана не характеризуется достоверным снижением ( $\log_{10}$  численности после замораживания и оттаивания  $4.3 \pm 0.6$ ), представляют интерес с точки зрения дальнейшего биологического обезвреживания шлама. Сравнительно высокая остаточная численность микроорганизмов свидетельствует, что использование замораживания и оттаивания в ходе подготовки шлама к биологическому обезвреживанию не приводит к необходимости использования биопрепарата в ходе дальнейшего биологического обезвреживания шлама.

Необходимо отметить, что ранее микрофлора, обитающая в объёме шлама ОАО «Казаньоргсинтез», не подвергалась воздействию замораживания и оттаивания. Источниками микрофлоры шлама, образующегося в ходе первичной очистки сточных вод, являются собственно сточные воды предприятия, система их первичной очистки и усреднители шлама. Данные системы в штатном режиме работы не подвержены замораживанию. Кроме того, подавляющее большинство культивируемых микроорганизмов шламов представлено грамотрицательными формами [Nikitina *et al.*, 2003], и в литературе отмечено меньшая устойчивость грамотрицательных микроорганизмов к воздействию замораживания [Parker *et al.*, 2000]. Для *Escherichia coli*, обитающей в активном иле, показано снижение  $\log_{10}$  численности с 2.6 до 0.92 уже при температуре замораживания минус 5°C. Таким образом, микрофлора шлама ОАО «Казаньоргсинтез» демонстрирует сравнительно высокую устойчивость к воздействию замораживания и оттаивания. Это может быть обусловлено тем, что механизмы выработки устойчивости к стрессу являются генерализованными. В случае микрофлоры шлама, приспособление к токсическому

стрессу может обеспечивать устойчивость к широкому кругу факторов. В частности, показано, что микроорганизмы, выделенные из нефтешлама, характеризуются повышенной устойчивостью к действию повышенных и пониженных температур, осмотическому стрессу [Nikitina *et al.*, 2003].

### **3.4 Влияние замораживания и оттаивания шлама на токсические и генотоксические свойства водной фазы шлама**

В водной фазе исходного шлама присутствуют токсичные компоненты, что обуславливает ненулевой уровень зоотоксичности. Изменения токсичности водной фазы шлама под воздействием замораживания и оттаивания незначительны и затрагивают лишь слабое увеличение токсического эффекта водной фазы шлама ОАО "Казаньоргсинтез" по отношению к *Ceriodaphnia affinis*. Возможный механизм изменения токсичности водной фазы – перераспределение компонентов шлама между водной и углеводородной фазами и поверхностью их раздела в ходе замораживания и оттаивания. Данные о увеличении токсичности по отношению к *Ceriodaphnia affinis* могут свидетельствовать о возможном переходе части токсичных компонентов шлама в водную фазу. Переход части поверхностно-активных компонентов шламов из поверхности раздела водной и углеводородной фаз под воздействием замораживания и оттаивания отмечен и другими авторами [Chen, He., 2003].

Для водной фазы шлама ОАО "Казаньоргсинтез" в тесте Эймса не выявлена мутагенность (превышение частоты появления ревертантов над фоном более чем в 2,5 раза); достоверных изменений генотоксических свойств водной фазы под воздействием замораживания и оттаивания не выявлено. Генотоксичность экстракта шлама ОАО «Казаньоргсинтез» на основе диметилсульфоксида (ДМСО) также не претерпевает изменений. Таким образом, замораживание и оттаивание шлама не вызывает существенного изменения условий обитания микроорганизмов в его толще с точки зрения токсических и генотоксических свойств водной фазы отхода.

### **3.5 Результаты полевого эксперимента по подготовке шлама ОАО "Казаньоргсинтез" к биоремедиации**

Зафиксированное снижение уровня загрязнения и токсичности шлама связано с воздействием комплекса факторов самоочищения отхода, ускоренных в контролируемых условиях обработки. В качестве основных действующих факторов можно выделить замораживание и оттаивание, обезвоживание шлама и деятельность активизирующейся микрофлоры отхода. В свою очередь, активизации микрофлоры способствовало преобразование шлама из состояния вязкой однородной массы в рыхлый твёрдый субстрат (при его обезвоживании), внесение удобрений и поддержание влажности шлама за счёт полива. Влияние замораживания и оттаивания на свойства шлама и населяющую его микрофлору складывается из угнетения микрофлоры непосредственно после воздействия, и дальнейшего ускорения обезвоживания шлама и улучшения его физической структуры, способствующего активизации микрофлоры шлама. Достигнутое снижение уровня загрязнения и токсичности шлама чрезвычайно важно с точки зрения его последующего биологического обезвреживания. Снижение фитотоксичности до уровня значительно менее 100% позволяет культивировать на шламе растения-фитомелиоранты, без разбавления отхода. Таким образом, может быть осуществлено дальнейшее интенсивное биологическое обезвреживание отхода методом фиторемедиации. Необходимо отдельно отметить, что данные изменения свойств шлама достигнуты за счёт простейшей обработки шлама, не связанной с

интенсивной эксплуатацией техники.

Принципиальное значение имеет тот факт, что изменения физической структуры шлама, достигнутые в ходе его обработки, имеют необратимый характер. Об этом свидетельствует снижение его водоудерживающей способности в ходе обработки с 66 до 44%. Стандартная методика определения водоудерживающей способности включает этап полного насыщения образца водой [Klute *et al.*, 1986]. Снижение значений водоудерживающей способности шлама в ходе обработки равнозначно тому, что вторичное насыщение водой частично обезвоженного отхода не вызывает его обратного преобразования в состояние исходной стабильной эмульсии. Таким образом, шлам после однократного воздействия замораживания, оттаивания и последующего обезвоживания необратимо переходит в состояние рыхлого твёрдого субстрата. Это улучшает условия в толще отхода с точки зрения деградации загрязнений, дальнейшего снижения уровней его загрязнения и токсичности.

### **3.6 Условия для активизации биологического обезвреживания шлама**

По данным скрининга растений-фитомелиорантов, наилучшими показателями развития в подготовленном шламе характеризуются ячмень *Hordeum vulgare*, овса *Avena sativa* и овсяницы *Festuca pratensis*. Из данных растений в качестве основного растения-фитомелиоранта был выбран овёс, ввиду его доступности. Значительные отличия в показателях развития между различными растениями обусловлены тем, что устойчивость растений к токсическим воздействиям видоспецифична и может различаться у представителей одного семейства, более того, различия в чувствительности к загрязнителю могут наблюдаться и в подвидах растений [Adam, Duncan, 2000; Liste, Prutz, 2006].

Применение доз удобрений, вызывающих максимальный уровень дыхательной активности микроорганизмов, в условиях фиторемедиации потребует дополнительных исследований. В частности, из данных литературы известно, что удобрения в дозе, оптимальной для микрофлоры (по дыхательной активности) оказываются токсичными для растений. В данной работе, подобный эффект был также выявлен, наилучшие результаты в отношении стимуляции развития овса *Avena sativa* L. (стимуляция роста около 70 %) были получены в варианте с внесением смеси наполнителей и половинной дозы удобрений. В случае подготовленного шлама ОАО «Казаньоргсинтез» именно при внесении половинной дозы внесения удобрений (1,5 г  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и 0,5 г суперфосфата на 1 кг шлама) были зарегистрированы наилучшие показатели роста овса, что позволяет рекомендовать эту дозировку удобрений на фоне внесения наполнителей, для проведения фиторемедиации шлама ОАО «Казаньоргсинтез».

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В данной работе на примере шлама ОАО «Казаньоргсинтез» впервые продемонстрирована возможность проведения подготовки углеводородного шлама к биологическому обезвреживанию за счёт инициации процессов его самоочищения. Изменение свойств шлама происходило под воздействием замораживания и оттаивания, последующего обезвоживания шлама и активизации микрофлоры отхода. В свою очередь, активизации микрофлоры способствовало преобразование шлама из состояния вязкой однородной массы в рыхлый твёрдый субстрат (при его обезвоживании), внесение удобрений и поддержание влажности шлама за счёт полива. За счёт действия данных факторов в полевых условиях достигнуто

снижение уровня загрязнения и токсичности шлама до уровня, совместимого с ростом растений-фитомелиорантов. Этот факт имеет принципиальное значение, поскольку позволяет осуществить дальнейшее интенсивное обезвреживание шлама с применением растений-фитомелиорантов без разбавления отхода. Тем самым показано, что использование замораживания и оттаивания и инициация физико-химических и микробиологических процессов самоочищения позволяет провести успешную подготовку шламов к биологическому обезвреживанию, несмотря на то, что непосредственные эффекты замораживания и оттаивания по отношению к микрофлоре были скорее отрицательными.

Таким образом, нами разработан новый способ обработки шлама, позволяющий преобразовать физическую структуру отхода, частично снизить уровень его токсичности и загрязнения до уровня, позволяющего культивировать растения-фитомелиоранты и таким образом осуществить в дальнейшем его интенсивное биологическое обезвреживание методом фиторемедиации. Данный способ успешно прошёл патентование (патент №2421289, приоритет от 15.04.2009). Данный способ основан на естественных процессах самоочищения отхода, ускоренных за счёт минимальной обработки: распределения на технологической площадке при отрицательных температурах окружающей среды, внесения удобрений, рыхления и полива. По сравнению с аналогичными технологиями биологического обезвреживания (в частности, с многократным разбавлением масс шлама как способом подготовки шламов к биологическому обезвреживанию) данный способ характеризуется максимальной технологической простотой и, таким образом, минимальной стоимостью.

## ВЫВОДЫ

1. Выявлена дестабилизация масс шлама ОАО «Казаньоргсинтез» под воздействием замораживания-оттаивания, проявляющаяся в ускорении его обезвреживания при естественном высушивании на 26% за 10 суток; выявлено преобладание кальцита и распространённых породообразующих силикатов в минеральной фазе шламов.

2. Процедура замораживания и оттаивания не изменяет токсикологические свойства водной фазы шлама ОАО "Нижнекамскнефтехим" и незначительно увеличивает таковую в случае шлама ОАО "Казаньоргсинтез" по отношению к *Ceriodaphnia affinis*; по отношению к *Paramecium caudatum* изменения токсикологических свойств водной фазы шлама не зафиксированы. Генотоксический эффект водной фазы шлама в тесте Эймса отсутствовал как до, так и после процедуры замораживания и оттаивания; органическая фаза проявляла слабую генотоксичность.

3. Замораживание и оттаивание шлама ОАО "Казаньоргсинтез" вызывает достоверное снижение численности аэробных гетеротрофных (снижение  $\log_{10}$  с  $6.2 \pm 1.1$  до  $4.5 \pm 0.4$ ) микроорганизмов, численность деструкторов гексадекана достоверно не изменяется, оставаясь на высоком уровне ( $4.3 \pm 0.6$ ).

4. Полевой эксперимент подтвердил закономерности изменения физико-химических характеристик шлама ОАО «Казаньоргсинтез»: шлам перешёл из состояния вязкой однородной массы в состояние рыхлого твёрдого субстрата с поровым пространством до 76% от объёма, его плотность снизилась с  $1.6 \text{ г/см}^3$  до  $1.0 \text{ г/см}^3$ ; уровень загрязнения углеводородами с  $96.1 \pm 15.0$  до  $83.7 \pm 7 \text{ г/кг}$ ; фитотоксичности – на 1-2 порядка (с ЕС50 на уровне 18-29% до 29-47%

ингибирования).

5. Предложены методы ускорения биологического обезвреживания шлама ОАО «Казаньоргсинтез», включающие внесение нитрата аммония ( $1\text{ г NH}_4\text{NO}_3/\text{кг}$ ) и суперфосфата ( $0,5\text{ г/кг}$ ), полив очищенными сточными водами, применение в качестве растения-мелиоранта овса (*Avena sativa* L.), рост которого благодаря вышеуказанным мероприятиям улучшается на 170% по показателю общей биомассы, что обеспечивает интенсификацию микробно-растительных взаимодействий в процессе обезвреживания шлама.

#### **Публикации по теме диссертации в изданиях, рекомендованных ВАК:**

1. Наумова Р.П. Предварительная оценка потенциала фиторемедиации твердых химических отходов / Р.П. Наумова, В.Н. Кудряшов, Т.В. Григорьева, Р.Р. Гафуров, И.Р. Мухаметшин, Р.Х. Хузаянов, **А.А. Несмелов** // Ученые записки Казанского государственного университета. Естественные науки. – 2008. – Т.150, кн. 2. – С.155-166.
2. Наумова Р.П. Предобработка твердого химического отхода перед его биоремедиацией / Р.П. Наумова, В.Н. Кудряшов, **А.А. Несмелов**, Р.Р. Гафуров, И.Р. Мухаметшин, Р.Р. Баширов, Т.В. Григорьева // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе, 2008. – №4. – С.29-31.

#### **Другие публикации по теме диссертации:**

3. Пат. №2421289, Российская Федерация, МПК В09В 3/00, С02F 11/00, В09С 1/00. Способ подготовки шламов / Р.П. Наумова, **А.А. Несмелов**, Т.В. Григорьева // заявка № 2009114390/03; заявл. 15.04.2009; опубл. 20.06.2011, Бюл. № 17. – 5 с.
4. Якушева О.И. Новый подход к обезвреживанию нефтешлама с целью последующей фиторемедиации / О.И. Якушева, Т.В. Григорьева, Р.А. Галиев, **А.А. Несмелов**, Р.З. Юсупов, Р.П. Наумова; Казан. гос. Университет, г. Казань, 2006. – 16 с. – Деп. в ВИНТИ 11.01.2007, № 17-В2007.
5. Григорьева Т.В. Оценка потенциала биоремедиации твердых отходов нефтехимии / Т.В. Григорьева, Р.А. Галиев, **А.А. Несмелов**, Р.З. Юсупов, О.И. Якушева, Р.П. Наумова // Материалы российской школы-конференции молодых ученых «Экотоксикология: современные биоаналитические системы, методы и технологии»: сб. статей. – Пушино-Тула, 2006. – С. 90.
6. Якушева О.И. Структурирование и изменение физических параметров нефтешлама в условиях новой технологии его предобработки / О.И. Якушева, В.Н. Никонорова, В.П. Кичигин, **А.А. Несмелов**, Т.В. Григорьева, Р.П. Наумова // Тезисы III научной конференции "Промышленная экология и безопасность" в рамках VI Международного Форума "Нефть, газ, экология", 10 сентября 2008, г. Казань. – С. 45-51.
7. Nesmelov A.A. New technology of hydrocarbon sludge preparation before its bioremediation / **A.A. Nesmelov**, O.I. Yakusheva, R.P. Naumova, T.A. Demina // Abstracts of the 13th annual Symposium for Biology Students of Europe «SymBioSE 2009» «Biology: Expansion of Borders» 30 July – 8 August 2009, Kazan. – P. 121-122.
8. Naumova R.P. Estimation of petrochemical sludge remedial potential / R.P. Naumova, O.I. Yakusheva, T.V. Grigoryeva, **A.A. Nesmelov**, A.V. Laikov, F.V. Shirshikov // Abstracts of the XIV international conference «Microbial enzymes in biotechnology and

medicine». – Kazan, 5-7 June 2009. – P.100-101.

9. Naumova R.P. Development of biotechnologies for industrial toxic wastes remediation / R.P. Naumova, O.I. Yakusheva, T.V. Grigoryeva, A.A. Rizvanov, **A.A. Nesmelov**, A.V. Laikov // Abstracts of the XIV international conference «Microbial enzymes in biotechnology and medicine». – Kazan, 5-7 June 2009. – P.28-29.

10. Якушева О.И., Промышленные углеводородные отходы как источник биотехнологически ценных микроорганизмов / О.И. Якушева, В.Н. Никонорова, В.П. Кичигин, Т.В. Григорьева, **А.А. Несмелов**, Р.П. Наумова / Тезисы IVй Межрегиональной конференции «Промышленная экология и безопасность» в рамках в рамках 16-й международной выставки «Нефть, газ, экология», 9 сентября 2009 г, Казань. – С.67-74.

11. Соловьева В.В. Молекулярно-генетический анализ почвенного микробного сообщества нац. парка «Нижняя Кама» / В.В. Соловьева, Т.В. Григорьева, **А.А. Несмелов**, Л.В. Блатт, А.А. Ризванов // 14 Международная Пушкинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века»; 19-23 апреля 2010 г; Сборник тезисов. – Пущино, 2010. – С. 263-264.

12. Несмелов А.А. Физическая гетерогенность и биоремедиация / **А.А. Несмелов**, Р.П. Наумова, Л. Дао // VI Международная научная школа «Наука и инновации – 2011», 18 – 24 июля 2011 г. – Йошкар-Ола. – С. 387-392.

Автор выражает глубокую признательность своему научному руководителю – д.б.н., в.н.с. Р.П. Наумовой за внимательное отношение к работе и неоценимую помощь на всех этапах работы, от постановки проблемы до обсуждения результатов и подготовки текста работы, д.б.н., академику АН РТ О.Н. Ильинской за помощь в расстановке приоритетов и личный пример, д.б.н., проф. Шинкарёву А.А. за вдохновение, воспитание, знания и идеи, к.б.н., м.н.с. Т.В. Григорьевой за плодотворное сотрудничество и поддержку, к.г.-м.н., сотруднику ФГУП ЦНИИ Геологии нерудных полезных ископаемых Шинкарёву А.А. за проведение рентген-дифрактометрического анализа минеральных фаз шламов, к.б.н. доц. Н.С. Карамовой, к.б.н., доц. П.В. Зеленихину, к.б.н., доц. А.Б. Маргулис, за помощь в организации экспериментов. Особая благодарность А.И. Колпакову и всем сотрудникам кафедры за всестороннюю помощь и доброжелательную рабочую атмосферу.

Отзывы на автореферат просим высылать по адресу: Казань, 420008, ул. Кремлевская, 18, Казанский университет, отдел аспирантуры, Ученому секретарю Диссертационного совета Д 212.081.08 Абрамовой Зинаиде Ивановне и по факсу: (843) 238-76-01